

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* berasal dari bahasa Yunani yaitu “*staphyle*” yang berarti sekelompok anggur. *S. aureus* merupakan jenis bakteri yang paling penting dalam menyebabkan infeksi pada manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S. aureus* sepanjang hidupnya, dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai infeksi berat (Brooks *et al*, 2004).

Bakteri *S. aureus* umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa manusia tanpa menyebabkan masalah kesehatan. Bakteri ini juga dapat menyebabkan penyakit, apabila terdapat kesempatan untuk *S. aureus* untuk masuk ke dalam tubuh, misalnya jika ada kulit yang tidak intak atau akibat prosedur kesehatan (Hiratmasu *et al*, 2001).

Individu dengan tingkat kolonisasi bakteri yang tinggi, seperti pada individu dengan status imun rendah, memiliki resiko yang tinggi pula terhadap infeksi *S. aureus* daripada individu dengan kolonisasi rendah atau tanpa kolonisasi *S. aureus* karena sebagian besar infeksi disebabkan oleh *S. aureus* yang berasal dari kolonisasi di tubuh pasien sendiri (Kasper *et al*, 2008)

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Menurut Todar (2005), taksonomi *S. aureus* adalah sebagai berikut.

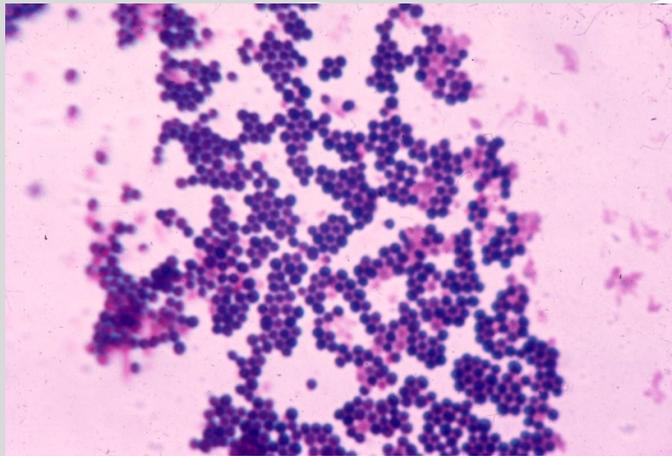
Kingdom : *Procaryotes*

Division : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Ordo : *Bacillales*
Family : *Microccaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* berbentuk sel bulat gerombol seperti buah anggur, kadang terlihat sel tunggal atau berpasangan. *S. aureus* juga dapat bergerombol empat kokus, secara khas membelah lebih dari satu bidang pada bentuk *cluster* yang tidak beraturan (Prescott dan Langsing, 1999).



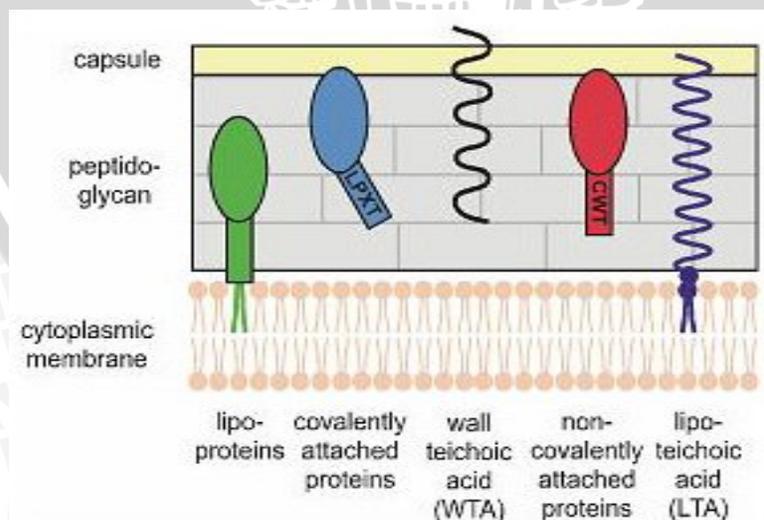
Gambar 2.1 Karakteristik Mikroskopik *S. aureus* dengan Pewarnaan Gram Perbesaran 1000 kali, bakteri berbentuk bulat berwarna ungu (James, 2011)

Bakteri *S. aureus* termasuk bakteri tidak motil, ukurannya 0,5 hingga 1,5 μm (Todar, 2002). Dengan pewarnaan gram bersifat gram positif, dimana pada gambar 2.1 bakteri berwarna ungu. Namun dalam keadaan tertentu dapat pula bersifat gram negatif dimana pada gambar 2.1 bakteri berwarna merah muda, misalnya pada organisme yang berasal dari tengah koloni, organisme yang

mengalami fagositosis oleh sel, dan organisme yang berasal dari perbenihan yang sudah tua (Dzen *et al*, 2003).

Bakteri *S. aureus* dapat tumbuh optimum pada pH 7,0-7,5 dan suhu 30°C - 37°C. Dinding sel tersusun dari peptidoglikan dan asam teikoat. *S. aureus* merupakan bakteri anaerob dan katalase positif (Prescott dan Langsing, 1999). Pertumbuhan terbaik pada suasana aerob, tetapi juga bersifat anaerob fakultatif, pada lempeng agar darah koloni lebih besar, dan pada varietas tertentu koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis (Warsa, 1994).

Dinding *S. aureus* terdiri dari 3 lapisan, yaitu kapsul polisakarida di bagian luar, lapisan peptidoglikan, dan membrane sitoplasmik di bagian dalam. Kapsul dari *S. aureus* sangat tipis dan hanya bisa dilihat dengan menggunakan mikroskop elektron (Somerville, 2011). Peptidoglikan menyusun 30% massa kering dinding sel bakteri. Asam lipoteikoat terikat pada *cytoplasmic membrane* sedangkan asam teikoat diduga berperan dalam proses *autolysis* dan pembelahan sel serta dapat bersifat antigenik bagi manusia (Kayser *et al*, 2005). Struktur dinding sel *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Dinding Sel *S. aureus* (Kayser *et al*, 2005)

2.1.2 Kultur dan Karakteristik Pertumbuhan

Untuk membiakkan *S. aureus* diperlukan suhu optimal antara 28-38°C, namun bila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan 37°C (Dzen *et al*, 2003). Identifikasi *S. aureus* meliputi morfologi pertumbuhan koloni, uji katalase untuk membedakan dari streptokokus, adanya produksi enzim koagulase serta adanya fermentasi mannitol pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Beishir, 1991).

Bakteri *S. aureus* memproduksi enzim katalase, yang merupakan pembeda dengan golongan *Streptococci*. Bakteri *S. aureus* juga memproduksi asam laktat dari hasil fermentasi karbohidrat namun tidak membentuk gas (Brooks *et al*, 2004). Sedangkan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* yang lain ialah adanya produksi koagulase, yang secara nonenzimatik dapat berikatan dengan protrombin, membentuk kompleks yang akan menginisiasi polimerasi dari fibrin. Tes koagulase ini dilakukan dengan cara menginkubasi *S. aureus* dalam plasma, dan dalam beberapa jam akan memproduksi fibrin clot (Ryan, 2004).

Mannitol Salt Agar merupakan media pertumbuhan bakteri yang selektif karena mengandung konsentrasi NaCl (7,5%) yang sangat tinggi. Hampir semua bakteri tidak bisa bertahan pada lingkungan hipertonik, kadar salin yang tinggi. Tetapi genus *Staphylococcus* dapat beradaptasi terhadap lingkungan salin dan tumbuh dalam media ini dengan baik. Media pertumbuhan ini juga dapat mengidentifikasi jenis dari *Staphylococcus* yang dapat memproduksi asam organik dari fermentasi mannitol. *S. aureus* merupakan “*mannitol fermenter*”, dan ketika tumbuh pada *Mannitol Salt Agar*, *S. aureus* dapat merubah warna *Mannitol*

Salt Agar dari merah menjadi kuning terang yang mengindikasikan adanya perubahan pH (Shields and Cathcart, 2006).



Gambar 2.3 Kultur Bakteri *S. aureus* pada Mannitol Salt Agar (Shields & Cathcart, 2006)

2.1.3 Faktor Virulensi dan Patogenesitas

Bakteri *S. aureus* memiliki antigen, enzim, dan toksin yang berperan sebagai faktor virulensi dan patogenesitas serta sangat berpengaruh pada proses infeksi. Penentu patogenesitas *S. aureus* yakni:

2.1.3.1 Struktur antigen

Struktur antigen yang diproduksi oleh *S. aureus* diantaranya peptidoglikan, asam teikoat, dan protein A. Lapisan peptidoglikan berjumlah 60% dari berat kering dinding sel dan merupakan komponen utama dari dinding sel *S. aureus* (Madigan *et al*, 2000). Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskeleton pada dinding sel. Peptidoglikan dapat dihancurkan oleh asam kuat atau lisozim. Substansi yang berperan penting dalam patogenesis infeksi karena dapat merangsang monosit mengeluarkan interleukin-1 (pirogen endogen) dan

antibodi. Zat ini juga dapat menjadi zat kimia penarik (kemotraktan) untuk leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas endotoksin, dan mengaktifkan komplemen (Jawetz *et al*, 1996).

Asam teikoat merupakan gliserol atau ribitol fosfat yang berikatan dengan peptidoglikan dinding sel dan dapat bersifat antigenik. Antibodi antiteikoat yang dapat dideteksi melalui gel dapat ditemukan pada penderita endokarditis aktif yang disebabkan oleh *S. aureus* (Jawetz *et al*, 1996).

Protein A adalah suatu komponen dinding *S. aureus* yang berikatan kuat pada bagian Fc setiap molekul IgG. Hal ini membuat bagian Fab molekul antibodi menghadap keluar, sehingga antibodi bebas berikatan dengan antigen spesifik. Proses ini banyak dipakai dalam imunologi dan teknologi diagnostik (Jawetz *et al*, 1996). Ikatan Fc-Ig dengan protein A dapat mengakibatkan tidak terjadinya opsonisasi dan proses fagositosis dihambat atau antifagosit, sehingga terhambatnya proses fagositosis memberi kesempatan pada bakteri untuk berbiak dan menginfeksi inang. Protein A merupakan salah satu faktor virulensi dan mempunyai peran biologis dalam mekanisme patogenesis bakteri *S. aureus* untuk menginfeksi inang (Carlton & Charles, 1993).

2.1.3.2 Toksin dan Enzim

Bakteri *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui pembentukan zat ekstraseluler yang dibentuk yaitu berupa toksin dan enzim. Toksin dan enzim ini akan menyebabkan penyakit menyebar luas ke dalam jaringan. Beberapa toksin dari enzim yang dihasilkan oleh *S. aureus* antara lain :

- Koagulase, merupakan salah satu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam serum. Enzim koagulase bereaksi terhadap

bentuk kompleks yang dapat membelah fibrinogen dan menyebabkan pembentukan bekuan fibrin, fibrin juga tersimpan pada permukaan *S. aureus*, yang mampu melindungi bakteri dari kerusakan sel akibat aksi fagositosis sel. Produksi koagulasi terkait dengan potensi patogenitas yang invasif (Prescott & Langsing, 1999).

- Katalase, merupakan suatu enzim yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Tes katalase dapat membedakan antara *Staphylococcus* yang menunjukkan hasil negatif untuk *Streptococcus* (Brooks *et al*, 2004).
- Hialuronidase, adalah enzim yang memecahkan asam hialuronat, suatu komponen penting dalam jaringan ikat, merupakan antigen spesifik. Lebih dari 90% strain *S. aureus* menghasilkan hialuronidase dan diketahui sebagai faktor penyebar infeksi. Enzim ini mampu menghidrolisis asam hialuronik yang berada pada interseluler, sebagai substansi dasar jaringan penghubung, sehingga mempermudah penyebaran infeksi (Joklik *et al*, 1992; Prescott & Langsing, 1999).
- Leukosidin, dihasilkan oleh *S. aureus*, toksin ini hanya menyerang leukosit polimorfonuklear dan makrofag (Joklik *et al*, 1992). Leukosidin mempunyai kemampuan untuk menghambat fagositosis oleh granulosit dan dapat menghancurkan sel dengan pembentukan pori-pori pada bekas fagosomnya. Antibodi terhadap leukosidin dapat berperan dalam resistensi terhadap infeksi *Staphylococcus* berulang (Prescott dan Langsing, 1999).
- Toksin eksolatif, dihasilkan oleh *Staphylococcus* grup II dan merupakan suatu protein ekstraseluler yang tahan panas tetapi tidak tahan asam.

Toksin eksfoliatif dapat menyebabkan Staphylococcus scalded skin syndrome (sindrom kulit keropeng akibat Staphylococcus) yang antara lain meliputi dermatitis eksfoliativa pada neonatus (Ritter's disease), impetigo bulosa, Staphylococcal scarlatiniform rash dan toksin epidermal nekrosis pada orang dewasa (Jawetz *et al*, 1996).

- Toksin Sindroma Syok Toksik (TSST), memiliki efek langsung terhadap endotel. Gen untuk TSST-1 ditemukan sekitar 20% dari *S. aureus* yang diisolasi (Jawetz *et al*, 1996). Beberapa kasus disfungsi multi organ, yang biasanya fatal disebabkan *S. aureus*, selalu dihubungkan dengan *Toxic Shock Syndrome Toxin* (TSST). Beberapa kasus TSST-1 biasanya berhubungan dengan kondisi menstruasi pada wanita. TSST-1 merupakan eksotoksin dengan berat molekul 22 kDa, yang dapat menimbulkan berbagai macam efek imunologik. Efek imunologik yang ditimbulkan adalah induksi ekspresi reseptor interleukin-2, sintesis interleukin, proliferasi limfosit T dan stimulasi sintesis interleukin-1 oleh monosit manusia. Tempat utama perlekatan TSST-1 pada sel mononuklear manusia dapat dikenali dengan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II (Joklik *et al*, 1992).

2.1.4 Patogenesis

Berbagai infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dimediasi oleh faktor virulen dan respon imun sel inang. Secara umum bakteri menempel ke jaringan sel inang kemudian berkoloni dan menginfeksi. Selanjutnya bertahan, tumbuh, dan mengembangkan infeksi berdasarkan kemampuan bakteri untuk melawan pertahanan tubuh sel inang. Respons sel inang dimediasi oleh leukosit yang

diperoleh dari ekspresi molekul adhesi pada sel endotel. Komponen dinding sel dari *S. aureus* yaitu peptidoglikan dan asam teikoat, memacu pelepasan sitokin. Leukosit dan faktor sel inang lainnya dapat dirusak secara lokal oleh toksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Selain itu adanya protein yang terdapat pada bakteri mengakibatkan respon anti inflamasi. Protein ini juga menghambat sekresi leukosit sel inang dengan cara berinteraksi langsung dengan protein sel inang, dan fibrinogen. Apabila tubuh tidak cukup berhasil mengatasi infeksi tersebut maka akan terjadi inflamasi lokal (Todar, 2005).

Bakteri *S. aureus* umumnya berkoloni di *nares*, *axillae*, vagina, faring, atau di permukaan kulit yang terluka. Infeksi ditandai saat timbul jejas pada kulit atau barrier mukosa, yang menyebabkan *S. aureus* dapat masuk ke dalam jaringan atau aliran darah. Resiko infeksi dapat meningkat pada penggunaan *foreign material*, seperti pada pemakaian kateter intravena (Lowy, 1998).

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, abses. *S. aureus* menyebabkan keracunan makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang terdapat pada makanan yang tercemar. Gejala yang muncul akibat keracunan makanan ini yaitu sakit kepala, mual, muntah, disertai diare yang muncul setelah empat sampai lima jam mengkonsumsi makanan tersebut (Salmenlina *et al*, 2002). Enterotoksin lain yaitu Toksin Syok Sindroma Toksik (TSST) yang dihasilkan *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit *Toxic Shock Syndrom* (TSS). TSS merupakan penyakit yang serius yang dapat menyebabkan pembusukan jaringan (Salyers & Dixie, 1994; Salmenlina *et al*, 2002).

Derajat keparahan lesi tergantung dari kemampuan host untuk melokalisir proses inflamasi akut, dan tipe dari jaringan yang terkena. Pada kulit, yang berperan adalah mekanisme resolusi melalui granulasi dan fibrosis. Di paru-paru, ginjal, tulang, dan organ lain, proses inflamasi dapat menyebar membentuk satellite foci dan melibatkan area yang luas. Pada kasus yang buruk, *S. aureus* menyebar ke aliran darah, mengakibatkan komplemen yang massif, leucopenia, trombositopenia, dan sindroma klinis dari septik syok (Ryan, 2004).

2.1.5 Mekanisme Resistensi Antibiotik

Beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap antimikroba antara lain (Dzen *et al*, 2003):

- Mikroba mengubah permeabilitas membrane selnya.
- Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru.
- Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat. Contohnya enzim beta laktamase yang diproduksi oleh *S. aureus*, memecah cincin β -lactam dari obat penisilin.
- Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit.
- Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi obat.
- Mikroba mengubah struktur target terhadap obat

Sebagian besar galur *S. aureus* yang berasal dari rumah sakit diketahui telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Hal ini dapat disebabkan karena *S. aureus* mampu mengkode enzim β -lactam dari antibiotik yang dapat memediasi terjadinya resistensi terhadap beberapa antibiotik. Saat ini diketahui lebih dari 90 isolat *S. aureus* memproduksi penisilinase. *Staphylococcus* yang

resisten terhadap penisilin dimediasi oleh *blaZ*. Gen ini mengkode enzim yang disintesis ketika *Staphylococcus* diberikan antibiotik β -lactam. Enzim ini mampu menghidrolisis cincin β -lactam, yang menyebabkan terjadinya inaktivasi β -lactam (Lowy, 2003).

Resistensi metisilin terjadi karena adanya perubahan protein pengikat penisilin. Hal ini disebabkan karena gen *mecA* mengkode 78 –kDa penicillin pengikat protein 2a (PBP2a) yang memiliki afinitas yang kecil terhadap semua antibiotik β -lactam. Hal ini memudahkan *S. aureus* bertahan pada konsentrasi yang tinggi dari zat tersebut, resistensi terhadap metisilin menyebabkan resistensi terhadap semua agen β -lactam, termasuk cephalosporin (Juuti, 2004).

2.1.6 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis yang ditimbulkan *S. aureus* berdasarkan lokasi dan kedalaman jaringan yang terinfeksi.

- Furunkel dan Karbunkel

Furunkel atau bisul ialah infeksi kulit superficial yang mengenai folikel rambut, kelenjar sebaceous, dan kelenjar keringat. Blokade dari duktus kelenjar merupakan predisposisi dari infeksi. Pasien yang terinfeksi biasanya adalah karier *S. aureus* pada anterior nares. Infeksinya bisa berkembang menjadi lebih dari satu abses pada jaringan subkutan yang sama, yang disebut Karbunkel, biasanya berlokasi di bagian belakang leher (Ryan, 2004).

- Chronic Furunculosis

Serangan berulang dari bisul yang disebabkan oleh *S. aureus* dari strain yang sama dapat menyebabkan furunkulosis kronik pada beberapa individu (Ryan, 2004).

- Impetigo

Bullous impetigo berupa bisul besar yang berisi banyak *S. aureus* pada lapisan superficial dari kulit, dan bisa disebut sebagai bentuk terlokalisir dari *scalded syndrome*. Lesi ini disebabkan oleh strain dari *S. aureus* yang memproduksi eksfoliatin (Ryan, 2004).

- Deep lesions

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi pada jaringan dalam seperti tulang, sendi, organ dalam, dan jaringan lunak seperti luka operasi, yang umumnya disebabkan oleh penyebaran bakterimia dari lesi di kulit yang tidak diketahui sebelumnya (Ryan, 2004)

Toksin dari *Staphylococcus* umumnya menyebabkan manifestasi klinis sebagai berikut:

- *Toxic Shock Syndrome*

Toxic Shock Syndrome ialah penyakit kegawatdaruratan yang dimediasi oleh toksin, biasanya didahului dengan infeksi oleh *S. aureus* atau *Streptococcus Grup A*. Penyakit ini ditandai dengan demam yang tinggi, ruam kulit, hipotensi, gagal multi organ (minimal 3 atau lebih dari system organ), dan deskuamasi. Gejala klinik juga termasuk nyeri otot, muntah, diare, sakit kepala, dan abnormalitas neurologik non fokal (Ramesh, 2012).

- *Scalded Skin Syndrome*

Ritter disease atau *Staphylococcus scalded skin syndrome* merupakan penyakit yang jarang namun sangat jelas manifestasinya dan sering pada neonates dan anak-anak. Gejala awal berupa demam, erythema, dan blister pada kulit yang bisa rupture dan meninggalkan bekas kemerahan. Pada penyakit ini juga didapatkan *Nikolsky sign* yang positif di mana bagian atas epidermis kulit intak dapat terdorong searah belahan kulit (Tolan, 2009).

2.1.7 Identifikasi *S. aureus*

Adapun proses identifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut (Brown *et al*, 2005):

- a. Pengambilan specimen
- b. Melakukan pewarnaan gram. Pada pewarnaan ini dapat diidentifikasi bahwa *S. aureus* merupakan bakteri gram positif.
- c. Uji katalase dan hasilnya adalah positif. Uji katalase ini dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*.
- d. Uji koagulase dengan menggunakan plasma manusia atau kelinci dan hasilnya adalah positif. Adapun uji koagulase ini meliputi uji koagulase tabung/koagulase bebas dan uji koagulase slide/koagulase terikat. Uji koagulase dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* jenis lainnya.

2.2 Tanaman Kitolod (*Isotoma longiflora*)

Kitolod merupakan tanaman semak yang memiliki tangkai bunga yang panjang, sesuai dengan nama latinnya yaitu *longiflora*. Mahkotanya berbentuk bintang dan berwarna putih bersih. Secara sekilas mirip dengan mahkota melati untuk teh (Ipteknet, 2005). Tanaman Kitolod bukan termasuk tanaman langka. Mungkin kita bisa katakan bahwa tanaman ini termasuk tanaman gulma. Kitolod sebenarnya tanpa kita sadari tumbuh di sekitar kita, tepatnya lebih banyak di pinggir selokan. Melihat keberadaan tumbuhnya tersebut, memang wajar saja kalau tanaman ini terabaikan.

Tanaman Kitolod ini ternyata berkhasiat menyembuhkan sakit mata sejenis katarak, tumor mata, dan mata minus. Konon kitolod berasal dari Benua Amerika yaitu, Amerika Serikat dan Amerika Selatan. Kitolod masuk dalam family Campanulaceae yang merupakan golongan tanaman obat yang berupa semak berbulu atau tanaman berukuran kecil. Terdapat 60-70 genus dan sekitar 2000 spesies (Ali, 2003). Menurut Plantamor (2008), klasifikasi botani dari tanaman kitolod sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (berpembuluh)
Superdivisio	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i> (berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Campanulales</i>
Familia	: <i>Campanulaceae</i>

Genus : *Isotoma*

Spesies : *Isotoma longiflora*

2.2.1 Karakteristik Fisik Kitolod

Tinggi tanaman ini sekitar 50cm, habitus semak, dan merupakan tanaman semusim. Bergetah putih yang rasanya tajam dan mengandung racun. batangnya berbentuk bulat, berkayu, dan berwarna hijau. Daun berbentuk panjang, berwarna hijau, permukaan kasar, ujung runcing, pangkal menyempit, tepi melekok ke dalam, bergigi sampai melekok menyirip. Daunnya merupakan daun tunggal dengan ukuran 2-3 cm dan panjangnya 5-15 cm. Bunganya berbentuk lonceng dengan mahkota berbentuk bintang. Biji berbentuk bulat telur, berukuran kecil dan berwarna putih. Akar tanaman ini berupa akar tunggang (Ali, 2003; Smith, 2001). Kitolod cocok untuk tumbuh di daerah dataran tinggi yang dingin meskipun sebenarnya dapat tumbuh di dataran rendah. Kitolod yang ditanam pada dataran rendah memberikan hasil yang kurang sempurna, yaitu daun tidak setebal di dataran tinggi dan daunnya tumpul (Ali, 2003).



Gambar 2.4 Tanaman Kitolod (Ipteknet, 2005)

Kemampuannya sebagai obat karena daun kitolod mengandung zat bioaktif seperti senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin (Dalimarta, 2008). Zat bioaktif adalah zat yang termasuk metabolit sekunder yang bersifat aktif secara biologis. Aktivasinya antara lain sebagai antimikroba yaitu suatu zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikrob seperti bakteri, khamir, dan kapang yang dapat digunakan untuk industri pangan dan farmasi (Heyne, 1987). Menurut Ismaylova (2008) daun kitolod mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri pada pasien penderita konjungtivitis. Bakteri yang berhasil diisolasi teridentifikasi sebagai *Stapylococcus hominis*. Belum banyak penelitian ilmiah yang mengeksplorasi khasiat daun maupun bunga kitolod sebagai obat konjungtivitis. Namun telah ada bukti empiris mengenai pemanfaatan ekstrak daun maupun bunga kitolod sebagai obat tetes mata penderita mata merah, mata gatal, dan katarak (Dalimarta, 2008).

2.2.2 Kandungan dan Manfaat

Kitolod memiliki banyak sekali kandungan zat aktif. Contohnya adalah alkaloid seperti lobelin, lobelamin, dan isotomin. Daunnya mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Getah tanaman ini beracun, tetapi bagian lain memiliki kandungan efek antiradang, antineoplastik atau antikanker, anti inflamasi atau antiperadangan, analgesik, dan hemostatik. Kitolod dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis gangguan pada mata akibat penyakit diabetes mellitus, asam urat, gangguan pada fungsi liver, dan ginjal (Ali, 2003; Ipteknet, 2005; Smith, 2001).

2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif Daun Kitolod

2.2.3.1 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1996).

Saponin dapat menghemolisis sel darah dan diketahui bahwa membran bakteri menyerupai membran sel darah merah sehingga saponin dapat melisiskan membran sel bakteri. Saponin bersifat racun bagi hewan poikilotermis (berdarah dingin) sehingga dapat dimanfaatkan untuk membasmi hama-hama tertentu. Saponin memiliki tekstur seperti sabun dan sering disebut deterjen alami. Apabila dikocok dengan air, saponin dapat menghasilkan busa. Busa ini akan semakin melimpah jika temperatur air dinaikkan. Ekstrak dari tanaman yang mengandung saponin bisa digunakan dalam bidang industri misalnya digunakan sebagai bahan kosmetik dan sampo. Saponin memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Saponin dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu (Raju, *et al*, 2004).

Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel. Ketika

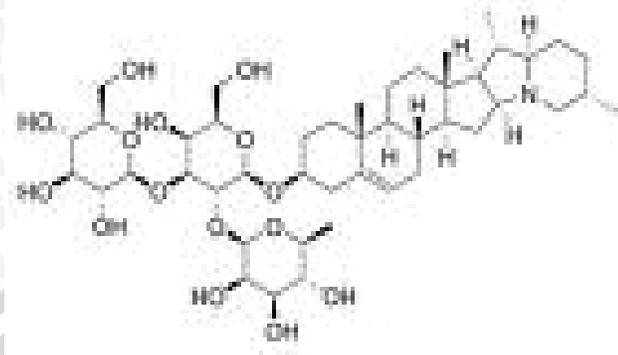
berikatan dengan kolesterol, saponin mengakibatkan perubahan lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor (Rao dan Sung, 1995).

Berdasarkan atas sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok: 1) Steroids dengan 27 atom C. Saponin steroida terdapat pada tumbuhan monokotil maupun dikotil, contohnya diosgenin yang terdapat pada *Dioscorea hispida*, dan hecogenin yang terdapat pada *Agave americana* 2) Triterpenoids, dengan 30 atom C. Saponin triterpenoida banyak terdapat pada tumbuhan dikotil seperti: gipsogenin terdapat pada *Gypsophylla* sp., dan asam glisiretat terdapat pada *Glycyrrhiza glabra*. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Macam-macam saponin berbeda sekali komposisi kimiawinya, yaitu berbeda pada aglikon (sapogenin) dan juga karbohidratnya, sehingga tumbuh-tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan, seperti:

- *Quillage saponin* : campuran dari 3 atau 4 saponin
- *Alfalfa saponin* : campuran dari paling sedikit 5 saponin
- *Soy bean saponin* : terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam sapogenin, atau karbohidratnya, atau dalam kedua-duanya.

Ikan yang mati karena racun saponin, tidak toksik untuk manusia bila dimakan. Tidak toksiknya untuk manusia dapat diketahui dari minuman seperti bir yang busanya disebabkan oleh saponin (Nio, 1989).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin (Puregreen, 2008)

2.2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, dapat larut dalam air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderer, 2002).

Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Flavonoid adalah senyawa yang ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, dan beberapa minuman yang memiliki beragam manfaat biokimia dan efek antioksidan. Telah diketahui bahwa aktifitas antioksidan dari tumbuhan karena adanya senyawa fenol. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi (Pourmourad, 2006).

Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsy IA, 2008). Flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 1994).

Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba. Aktivitas tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba (Melderer, 2002). Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel semakin kuat (Cowan, 1999).

2.2.3.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering bersifat racun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Harbone, 1987).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

2.2.3.4 Polifenol

Polifenol ini diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini dibuktikan oleh hasil penelitian Alberto *et al* (2006), yang menunjukkan polifenol dari kulit apel dapat menghambat bakteri patogen pada manusia seperti *E. Coli* dan *S. aureus* (Kunaepah, 2008).

Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol antara lain dengan cara (Kunaepah, 2008) :

- a. Mengganggu pembentukan dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat melarut pada fase lipid dari membran bakteri.
- b. Bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.

2.3 Antimikroba

Antimikroba adalah salah satu senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme dan dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme. Aktivitas antibakteri diantaranya dipengaruhi oleh faktor potensi dari obat antibakteri dan faktor yang menyangkut sifat dan bakteri itu sendiri khususnya susunan kimia dinding sel bakteri tersebut (Setiabudy, 1995).

2.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

- a. Mengganggu integritas membrane sel

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membras sitoplasma, yang dapat mengakibatkan kebocoran materi

intraseluler, seperti senyawa fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membrane sel (Brunton, 2006).

b. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Pada konsentrasi tertentu molekul-molekul antimikroba kebanyakan berbentuk tak berdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membrane protein, dan dapat melarut baik pada fase lipid dari membrane bakteri (Ardiansyah, 2005; Brunton, 2006).

c. Mengganggu aktivasi material genetik

Komponen bioaktif antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetic sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan (Ardiansyah, 2005).

d. Mengganggu kerja enzim

Senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba, sehingga kelangsungan aktivitas mikroba akan terganggu karena energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang (Brunton, 2006).

2.3.2 Penentuan Aktivitas Antimikroba

Uji kepekaan terhadap antimikroba secara *in vitro* diperlukan untuk membantu para klinisi untuk memberikan pengobatan yang sesuai. Pada dasarnya uji kepekaan antimikroba dapat dilakukan dengan dua cara yaitu :

2.3.2.1 Metode Dilusi

Prinsip dari metode dilusi adalah sebagai berikut. Menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 /ml. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadi kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) atau jumlah koloni kurang dari 0,1% dari jumlah koloni pada *original inoculum*. (Dzenet *al*, 2003)

Selain menggunakan dilusi tabung, metode yang lain adalah dengan dilusi agar. Pada dilusi agar, zat antimikroba dan organisme yang akan diuji diletakkan bersama-sama dalam medium agar. Masing-masing konsentrasi zat antimikroba diuji dengan menggunakan satu medium agar. Setelah inkubasi, diamati pertumbuhan koloninya. KHM didapat dari konsentrasi zat antimikroba terendah yang dapat menghambat pertumbuhan koloni pada medium agar (Baron *et al*, 1994).

2.3.2.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode ini yaitu antimikroba dijenuhkan ke dalam cakram kertas kemudian cakram kertas tersebut diletakkan pada medium perbenihan agar padat yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° selama 18-24 jam kemudian diamati zona jernih sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al*, 2003). Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan melakukan dua cara yaitu:

a. Cara Kirby Bauer

Prinsip dari cara *Kirby Bauer* ini adalah dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan menggunakan table standar yang dibuat oleh National Committee Centre for Laboratory Standard (NCCLS). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui apakah bakteri uji tersebut masuk dalam kriteria sensitif, sensitif sedang atau resisten (Dzen *et al*, 2003).

b. Cara Joan-Stokes

Prinsip dari cara *Joan-Stokes* ini adalah dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap antimikroba tersebut dengan bakteri yang akan diuji. Pada cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu cawan petri (Dzen *et al*, 2003).

Untuk interpretasi hasil, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dihubungkan dengan konsentrasi antimikroba yang diberikan dengan level dosis standar. Kalkulasi ini didasarkan pada rata-rata parameter farmakokinetik dan farmakodinamik yang telah diketahui. Interpretasi hasil juga dipengaruhi oleh pengalaman klinis yang telah dilakukan. Beberapa data

klinis sangat berguna untuk membatasi antara bakteri yang *susceptible* dan resisten. Sedangkan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) merupakan konsentrasi paling kecil dari antimikroba yang dapat membunuh 99,9% sel pada inokulum (Kayser *et al*, 2005).

2.4 Metode Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan pelarut. Pada dasarnya metode ekstraksi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu:

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-terpotong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok berulang-ulang (kira-kira 3 kali sehari). Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1995).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (perkulator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengestraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui

penyegaran bahan pelarut secara kontinyu, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak. Jika pada maserasi sederhana tidak terjadi ekstraksi sempurna dari simplisia oleh karena akan terjadi keseimbangan kosentrasi antara larutan dalam seldengan cairan disekelilingnya, maka pada perkolasi melalui simplisia bahan pelarut segar perbedaan kosentrasi tadi selalu dipertahankan. Dengan demikian ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan (praktis jumlah bahan yang dapat diekstraksi mencapai 95%) (Voight,1995).

2.4.3 Sokletasi

Sokletasi dilakukan dengan cara bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam kantung ekstraksi (kertas, karton, dan sebagainya) dibagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkulator). Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap dan mencapai kedalam pendingin aliran balik melalui pipet yang berkondensasi didalamnya. Menetes kertas bahan yang diekstraksi dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul didalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan kedalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi terakumulasi melauai penguapan bahan pelarut murni berikutnya (Voight, 1995).